

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

KARIN CRISTINA DE CAMARGO

**ANATOMIA COMPARADA DE ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE**  
***Barbosella* Schltr. (ORCHIDACEAE: PLEUROTHALLIDINAE)**

CURITIBA

2016

KARIN CRISTINA DE CAMARGO

**ANATOMIA COMPARADA DE ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE**

***Barbosella* Schltr. (ORCHIDACEAE: PLEUROTHALLIDINAE)**

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Érika Amano

Coorientador: Eric de Camargo Smidt

CURITIBA

2016

## TERMO DE APROVAÇÃO

KARIN CRISTINA DE CAMARGO

ANATOMIA COMPARADA DE ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE  
*Barbosella* Schltr. (ORCHIDACEAE: PLEUROTHALLIDINAE)

Monografia aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel no Curso de Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Érica Amano

Orientadora – Departamento de Botânica - UFPR

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cleusa Bona

Departamento de Botânica - UFPR

M.Sc. Mônica Bolson

Departamento de Botânica - UNESP

Curitiba 2016

## **AGRADECIMENTOS**

A minha mãe Simone, ao meu irmão Alexandre, meus avós, meu namorado Paulo e amigos que sempre estiveram ao meu lado me apoiando nas minhas escolhas.

À minha orientadora, Profa. Dra. Erika Amano e ao meu coorientador Prof. Dr. Eric de Camargo Smidt, pelas orientações e conhecimentos transmitidos.

À Mônica Bolson pela ajuda, orientações e por disponibilizar as espécies para o trabalho.

Ao Curso de Ciências Biológicas por me proporcionar novos conhecimentos e oportunidades.

Ao Laboratório de Botânica Estrutural do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná.

Ao técnico de laboratório Nilson Belém Filho, pelas conversas e colaboração nos trabalhos de laboratório.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR pela disponibilidade da estrutura e equipamentos para análise em MEV.

## RESUMO

A família Orchidaceae é considerada uma das maiores e mais diversas famílias vegetais. A família é subdividida em cinco subfamílias dentre elas Epidendroideae onde se encontra a subtribo Pleurothallidinae com distribuição no Neotrópico, é constituída por 4500 espécies e aproximadamente 38 gêneros. Nessa subtribo encontra-se o gênero *Barbosella* que possui cerca de 20 espécies. As espécies são encontradas nas Ilhas do Caribe e da Guatemala até o sul do Brasil e ao norte da Argentina. Uma característica importante do gênero é a presença de um labelo ligulado a ovado, de base articulada ao pé da coluna, simples ou com encaixe esférico característico de *ball-and-socket*, que é similar entre as espécies. Através do desenvolvimento do trabalho buscaram-se características anatômicas que ajudem a delimitar melhor as espécies. Foram coletados os órgãos vegetativos (raiz, rizoma, ramicaule e folha) de 13 espécies de *Barbosella* e quatro espécies como grupo externo. As amostras foram seccionadas a mão livre e a partir de amostras emblocadas em resina. Foram realizadas análises em microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Dentre as características taxonômicas mais importantes estão: o número e formato das células do velame e a variação na quantidade de polos de protoxilema e tipo de espessamento da parede da exoderme na raiz, número de feixes vasculares e presença de fibras ao redor no ramicaule, formato em seção transversal do ramicaule, presença de feixes medulares e o número de feixes vasculares no rizoma, formato em seção transversal da folha, distribuição do parênquima aquífero no mesofilo e presença de feixes de fibra ou vascular no bordo foliar. A partir dos dados coletados foi construída uma análise de agrupamento entre as espécies.

Palavras-chave: análise de agrupamento, folha, raiz, ramicaule, rizoma.

## ABSTRACT

The Orchidaceae family has been considered one of the largest and most diverse plant families. The family is divided into five subfamilies among them Epidendroideae where the subtribe Pleurothallidinae with distribution in the Neotropics, consists of 4,500 species and about 38 genera. In this subtribe is the *Barbosella* genre that has about 20 species. The species are found in the Caribbean Islands and Guatemala to southern Brazil and northern Argentina. An important feature of the genre is the presence of a lip ligulate to ovate, hinged base at the foot of the column, plain or with characteristic spherical locking ball-and-socket, which is similar among species. Through the development work we sought to anatomical features that help to better define species. They collected the vegetative organs (root, rhizome, ramicaul and leaf) of 13 species and four species *Barbosella* outgroups. The samples were cut freehand and it were embedded in historesin. Analyzes were performed under light microscopy and scanning electron microscopy. Among the most important taxonomic characteristics are: the number and shape of the aerofoil cells and the variation in the amount of protoxylem poles and type of wall thickening exodermal the root, number of bundles and the presence of surrounding fibers in ramicaul format ramicaul cross-section, the presence of spinal cord bundles and the number of bundles in the rhizome, cross-sectional shape of the leaf parenchyma aquifer distribution in the mesophyll and the presence of vascular fiber bundles or the leaf margin. Based on the collected data it was built a cluster analysis among species.

Key words: cluster analysis, leaf, ramicaul, rhizome, root.

## **LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 1 - ASPECTO DAS ESPÉCIES ESTUDADAS .....	13
FIGURA 2 - RAIZ EM SECÇÃO TRANSVERSAL.....	15
FIGURA 3 - RIZOMA EM SECÇÃO TRANSVE .....	17
FIGURA 4 - RAMICAULE EM CORTE TRANVERSAL .....	18
FIGURA 5 – FOLHA .....	21
FIGURA 6 - FOLHA EM CORTE TRANSVERSAL.....	22
FIGURA 7 - FOLHA CORTE TRANSVERSAL.....	23
FIGURA 8 - ÁRVORE DE ANÁLISE DE AGRUPAMENTO.....	30

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 - LISTA DOS TAXA ESTUDADOS, VOUCHER, INFORMAÇÕES SOBRE OS ÓRGÃOS ANALISADOS E LOCAL DE ORIGEM DOS ESPÉCIMES .....	10
TABELA 2 - MATRIZ ANATÔMICA DE RAIZ E FOLHA .....	28

## **LISTA**

LISTA 1 – ENUMERAÇÃO DOS CARACTERES DE RAIZ E FOLHA E SEUS ESTADOS .....	27
---	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>10</b>
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>14</b>
3.1 RAIZ .....	14
3.2 RIZOMA .....	16
3.3 RAMICAULE .....	17
3.4 FOLHA .....	19
3.5 ANÁLISE DE AGRUPAMENTO .....	26
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>6 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>36</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O planeta Terra possui uma grande variedade de plantas. Essa variedade está relacionada às adaptações ecofisiológicas que as plantas foram desenvolvendo ao longo do tempo para sobreviverem a um determinado local. Essas variações entre as plantas levam em consideração características anatômicas e morfológicas e são importantes estratégias para a obtenção de água e nutrientes. As diferenças entre as plantas são importantes para classificá-las e agrupá-las, além disso, servem para entender a história evolutiva ao longo do tempo.

Dentre os grupos de plantas com grande diversidade encontra-se família Orchidaceae, apresentando espécies com diferentes tipos de formas, tamanhos, cores e aromas. Sendo considerada uma das maiores e mais diversas famílias vegetais distribuídas por todo o mundo, onde sua maior diversidade encontra-se em regiões tropicais e subtropicais, com exceção das regiões polares e desérticas (DRESSLER, 1993). Todo ano novas espécies e gêneros vêm sendo descritos dentro de Orchidaceae, atualmente são aceitos 736 gêneros dentro da família, que ao longo do tempo vem sofrendo alterações em sua classificação (CHASE et al., 2015).

A família caracteriza-se por apresentar flores com três pétalas e três sépalas, sendo uma das pétalas com formato modificado, chamada de labelo. Está dividida em cinco subfamílias: Apostasioideae, Vanilloideae, Cyrtipedioidae, Orchidoideae e Epidendroideae (CHASE et al., 2003). Nessa última subfamília encontram-se 16 tribos, dentre elas está Epidendreae (CRIBB & CHASE, 2005), com espécies presentes somente no Novo Mundo. A tribo é dividida em seis subtribos Bletiinae, Chysinae, Coeliinae, Laeliinae, Ponerinae e Pleurothallidinae (VAN DEN BERG, 2005).

A subtribo Pleurothallidinae Lindl., com distribuição no Neotrópico, é constituída por 4500 espécies e aproximadamente 38 gêneros (CHASE et al., 2015), representando aproximadamente 16% da família Orquidaceae (HIGGINS & WILLIAMS, 2008). Esta subtribo se distingue das demais por apresentar uma articulação associada a uma zona de abscisão entre o ovário e o pedicelo (DRESSLER, 1993).

O gênero *Barbosella* Schltr. é um dos gêneros da subtribo Pleurothallidinae e é encontrado nas Ilhas do Caribe (Hispaniola, Guadeloupe e Martinique) e da Guatemala até o sul do Brasil e ao norte da Argentina e atualmente são conhecidas cerca de 20 espécies (PRIDGEON et al., 2005). Apresenta plantas terrestres, epífitas ou litofíticas (PRIDGEON et al, 2005) com folhas coriáceas, elípticas a suborbiculares ou semicilíndricas a cilíndricas, agudas a obtusas, sésseis ou pecioladas. As espécies podem possuir ramicaule, que é a parte ereta do caule que porta a folha, é a partir do rizoma ou da raiz que ele se desenvolve (STERN & PRIDGEON 1984). Em *Barbosella* nem todas as espécies possuem o ramicaule ereto, devido o hábito da maioria das espécies ser repitante por isso o ramicaule é inconspícuo. Algumas espécies de *Barbosella* podem possuir rizoma muito pequeno, isso ocorre nas espécies de hábito cespitoso, ou podem possuir rizoma longo que ocorre nas espécies de hábito repitante. A inflorescência possui pedúnculo ereto e fino, as flores são solitárias pequenas e ressupinadas, as pétalas possuem formato elíptico a linear-ovalado, agudo. As sépalas são membranáceas, as laterais ovadas a triangulares e muito abertas em relação à sépala dorsal, esta é livre e linear a triangular. As pétalas são elípticas a linear-ovaladas, agudas. O labelo é ligulado a ovado, de base articulada ao pé da coluna, simples ou com encaixe esférico característico de *ball-and-socket*, que é similar entre as espécies e diferencia o gênero da subtribo. A coluna é semicilíndrica, incumbente e geralmente alada, com um pé desenvolvido; antera apical, incumbente; apresenta quatro polínias, característica que difere o gênero na subtribo; e estigma inteiro (LUER, 2000; PRIDGEON et al., 2005).

Busca-se através do presente trabalho fazer um levantamento das características anatomicas dos órgãos vegetativos (raiz, rizoma, ramicaule e folha) de forma comparativa, na busca por caracteres adicionais que caracterizem *Barbosella* como um todo e que auxilie no reconhecimento das espécies, dado que a morfologia vegetativa externa das plantas é muito semelhante.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As espécies foram coletadas por especialistas e/ou coletadas de amostras fixadas em álcool tombadas no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná e bem como de orquidários e de coleções particulares (TABELA 1) (FIGURA 1).

As quatro espécies do grupo externo são da subtribo Pleurothallidineae e foram escolhidas com base no trabalho de Pridgeon et al. (2001).

Amostras de raiz e folha foram coletas para todas as espécies, no entanto o rizoma e o ramicaule, somente nas espécies onde eram conspícuos.

As espécies que apresentam rizoma são: *B. australis*, *B. cogniauxiana*, *B. crassifolia*, *B. dusenii*, *B. gardneri*, *B. miersii*, *B. orbicularis*, *B. perinii*, *B. spiritusanctensis* e *B. trilobata*. E as espécies que possuem ramicaule são: *B. australis*, *B. cogniauxiana*, *B. cucullata*, *B. dolichorhiza*, *B. gardneri*, *B. perinii*, *B. prorepens*, *Myoxanthus lonchophyllus*, *Pleurothallopsis nemorosa*, *Restrepia elegans* e *Octomeria grandiflora*.

TABELA 1 – LISTA DOS TAXA ESTUDADOS, *VOUCHER*, INFORMAÇÕES SOBRE OS ÓRGÃOS ANALISADOS E LOCAL DE ORIGEM DOS ESPÉCIMES. R=raiz, RZ=rizoma, RM=ramicaule, F= folha; s.l.=sem localidade.

Táxon	Voucher	Órgãos	Localidade
<i>Barbosella australis</i> (Cogn.) Schltr.	Bolson, M. 525	R, RZ, RM e F	s.l., Brasil, Orquidário Alvim Seidel – SC.
<i>Barbosella australis</i> (Cogn.) Schltr.	Bolson, M. 527	R, RZ, RM e F	s.l., Brasil, Santa Catarina, Luzerna.
<i>Barbosella cogniauxiana</i> (Speg. & Kraenzl.) Schltr.	Bolson, M. 522	R, RZ, RM e F	s.l., Brasil, Santa Catarina, Ibicaré.
<i>Barbosella cogniauxiana</i> (Speg. & Kraenzl.) Schltr.	Klingelfus, M.L. 113	R, RZ, RM e F	s.l., Brasil, Paraná, Ponta Grossa,
<i>Barbosella cogniauxiana</i> (Speg. & Kraenzl.) Schltr.	Klingelfus, M.L. 114	R, RZ, RM e F	s.l., Brasil, Paraná, Ponta Grossa.
<i>Barbosella crassifolia</i> (Edwall) Schltr.	Bolson, M. 545	R, RZ e F	Brasil, Paraná, Pontal do Paraná, Margens do Rio Iguaçu
<i>Barbosella crassifolia</i> (Edwall) Schltr.	Toscano de Brito, A.L.V. 3479	R, RZ e F	s.l., Brasil, Espírito Santo, Venda Nova do Imigrante, Orquidário Caliman
<i>Barbosella cucullata</i> (Lindley) Schltr.	Bolson, M. 534	R, RM e F	s.l., Equador, Orquidário Ecuagenera
<i>Barbosella dolichorhiza</i> Schltr.	Bolson, M. MB03	R, RM e F	s.l., Equador, Orquidário Ecuagenera.

<i>Barbosella dusenii</i> (Samp.) Schltr.	Bolson, M. 524	R, RZ, e F	s.l., Brasil, Santa Catarina, Canoinhas.
<i>Barbosella gardneri</i> (Lindl.) Schltr.	Bolson, M. 493	R, RZ, RM e F	Brasil, Rio de Janeiro, Teresópolis, Parque Nacional da Serra dos Órgãos
<i>Barbosella gardneri</i> (Lindl.) Schltr.	Bolson, M. 519	R, RZ, RM e F	Brasil, Santa Catarina, Joinville, Distrito de Pirabeira, Estrada Bonita
<i>Barbosella miersii</i> (Lindl.) Schltr.	Bolson, M. 516	R, RZ e F	Brasil, Santa Catarina, Benedito Novo, fazenda do Afonso
<i>Barbosella miersii</i> (Lindl.) Schltr.	Bolson, M. 577	R, RZ e F	Brasil, Espírito Santo, Santa Teresa, Reserva Biológica Augusto Ruschi
<i>Barbosella orbicularis</i> Luer	Bolson, M. MB04	R, RZ e F	s.l., Equador, Cultivo do Orquidário Ecuagenera
<i>Barbosella perinii</i> Ruschi	Bolson, M. 582	R, RZ, RM e F	Brasil, Espírito Santo, Santa Teresa, Reserva Biológica Augusto Ruschi
<i>Barbosella prorepens</i> (Rchb.f.) Schltr	Bolson, M. MB05	R, RM e F	s.l., Equador, Orquidário Ecuagenera
<i>Barbosella spiritu-sanctensis</i> (Pabst) F.Barros & Toscano	Toscano de Brito, A.L.V. 2881	R, RZ e F	Brasil, Espírito Santo, Santa Teresa, reserva Biológica Santa Lúcia
<i>Barbosella trilobata</i> Pabst	Klingelfus, M.L. 155	R, RZ e F	s.l., Brasil, Paraná, Pinhais, Orquidário Marcos Klingelfus,
<i>Myoxanthus lonchophyllus</i> (Barb.Rodr. ) Luer	Klingelfus, M.L. 199	R, RM e F	s.l., Brasil, Paraná, Pinhais, Orquidário Marcos Klingelfus,.
<i>Pleurothallopsis nemorosa</i> (Barb.Rodr. ) Porto & Brade	Toscano de Brito, A.L.V. 3414	R, RM e F	s.l., Brasil, São Paulo, Mogi das Cruzes, Orquidário Paraíso das Microorquídeas.
<i>Restrepia elegans</i> H.Karst.	Klingelfus, M.L. 165	R, RM e F	s.l., Brasil, Paraná, Pinhais, Orquidário Marcos Klingelfus.
<i>Octomeria grandiflora</i> Lindl.	Bolson, M. 609	R, RM e F	s.l., Brasil, Paraná, Bocaiúva do Sul.

As amostras coletadas foram fixadas em FAA 50% (JOHANSEN, 1940). A análise anatômica das folhas foi feita através de cortes transversais feitos à mão livre, clarificados em hipoclorito e corados com azul de Astra 1% em solução alcóolica 50% e safranina em solução alcóolica 50%. As secções foram montadas em gelatina glicerizada (KAISER, 1880). A análise anatômica dos cortes de raiz, rizoma e ramicaule foram feitas através de material embocado em resina seccionado e corado com azul de toluidina (O'BRIEN et al., 1965).

Para a análise em vista frontal da epiderme foliar foi realizada a dissociação, sendo as amostras colocadas em solução de Franklin (1945). A epiderme foi corada com safranina 1% em solução alcóolica 50%, e montadas lâminas semipermanentes com gelatina glicerinada (KAISER, 1880).

O registro fotográfico de todo o material analisado foi realizado com o auxílio de microscópio óptico Olympus EX41, com câmera digital acoplada, e do programa computacional analySIS getIT para este registro.

Para análises em microscópio eletrônico de varredura (MEV), foram selecionadas pequenas amostras das folhas, desidratadas em série etílica, submetidas ao ponto crítico e cobertas com ouro. As análises das amostras foram realizadas com o microscópio eletrônico de varredura TESCAN VEGA3 LMU.

O padrão de cera seguiu a nomenclatura proposta por Barthlott (1982) e o formato dos Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal por Olantuji & Nenguim (1980).

Uma análise de agrupamento foi realizada entre as espécies utilizando as características anatômicas de folha e raiz. O ramicaule e o rizoma não fizeram parte da análise, pois não estão presentes em todas as espécies. A análise foi realizada considerando 42 caracteres anatômicos selecionados de folhas e raízes, o algoritmo utilizado foi Bootstrap, no programa PAST, versão 2.17c. Foram selecionados caracteres com informações completas e consolidadas para a maioria das espécies, caracteres independentes entre si sem sobreposições (FELSENSTEIN, 1985).

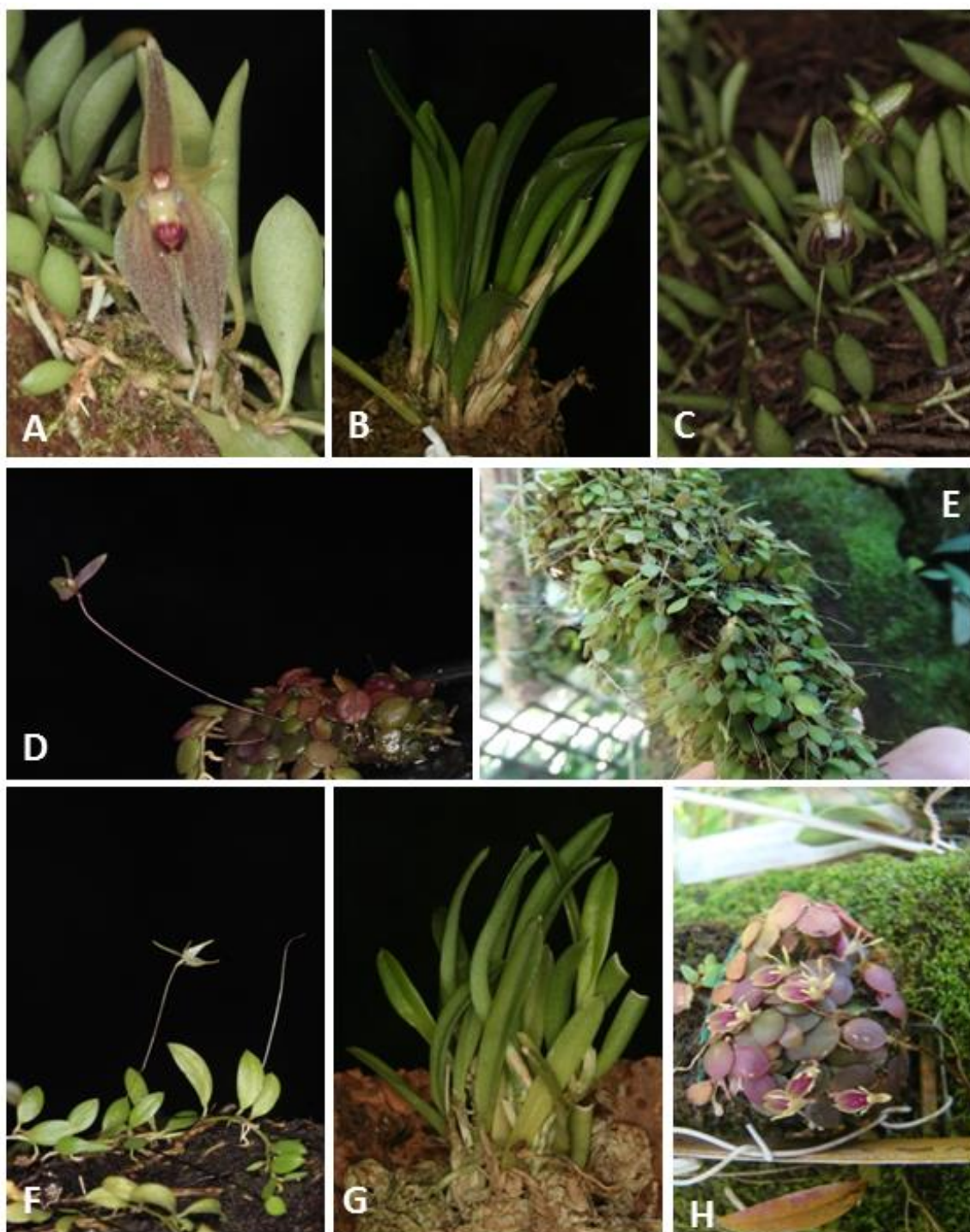


Figura 1. Aspecto das espécies estudadas. A) *Barbosella australis* (Cogn.) Schltr.; B) *Barbosella cucullata* (Lindley) Schltr.; C) *Barbosella trilobata* Pabst.; D) *Barbosella crassifolia* (Edwall) Schltr.; E) *Barbosella miersii* (Lindl.) Schltr.; F) *Barbosella gardneri* (Lindl.) Schltr.; G) *Barbosella prorepens* (Rchb.f.) Schltr. Espécie com hábito cespitante; H) *Barbosella orbicularis* Luer.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 RAIZ

As raízes tem formato arredondado em secção transversal, a maioria apresenta duas camadas de velame (FIGURA 2-A, E), exceto *B. trilobata* que apresenta somente uma camada com células quadradas (FIGURA 2-F) e *B. cogniauxiana*, *B. cucullata*, *B. perinii* e *Myoxanthus lonchophyllus* apresentam três camadas (FIGURA 2-B, C, D).

As espécies que apresentam mais de uma camada de velame podem ser diferenciadas entre si ou não. A maioria das espécies não apresenta diferenciação no velame e são formadas por duas camadas de células achatadas radialmente ou quadradas (FIGURA 2-E). Quando ocorre diferenciação entre as camadas, a camada ou as camadas internas do velame são alongadas radialmente e a mais externa achatada radialmente como em *B. australis* (FIGURA 2-A), *B. cogniauxiana*, *B. cucullata*, *B. dolichorhiza*, *B. perinii*, *B. prorepens*, *B. spiritu-sanctensis* e *Restrepia elegans* (FIGURA 2-C).

*Myoxanthus lonchophyllus* (FIGURA 2-D) e *Octomeria grandiflora* (FIGURA 2-E) apresentam camadas lignificadas no velame.

Em *B. dusenii* e *Myoxanthus lonchophyllus* observou-se tricomas no velame, porém a presença do tricoma é muito inconstante (FIGURA 2-G).

Em secção transversal podem ser observados três tipos de espessamentos na parede da exoderme, espessamento em forma de U como observado na maioria das espécies (FIGURA 2-A), o espessamento em forma de U invertido, em que a parede anticlinal interna não possui espessamento, pode ser observado em *B. perinii* e *B. trilobata* (FIGURA 2-F), e o espessamento em formato de O nas espécies de *B. crassifolia*, *B. gardneri*, *Restrepia elegans* e *Octomeria grandiflora* (FIGURA 2-E).

A exoderme também sofre variação quanto ao formato das suas células. A maioria das espécies apresenta células alongadas radialmente (FIGURA 2-A), enquanto em *B. dusenii*, *B. gardneri*, *B. miersii*, *B. orbicularis*, *B. perinii* (FIGURA 2-C), *Myoxanthus lonchophyllus* (FIGURA 2-D) e *Octomeria grandiflora* (FIGURA 2-E) apresentam células quadradas.



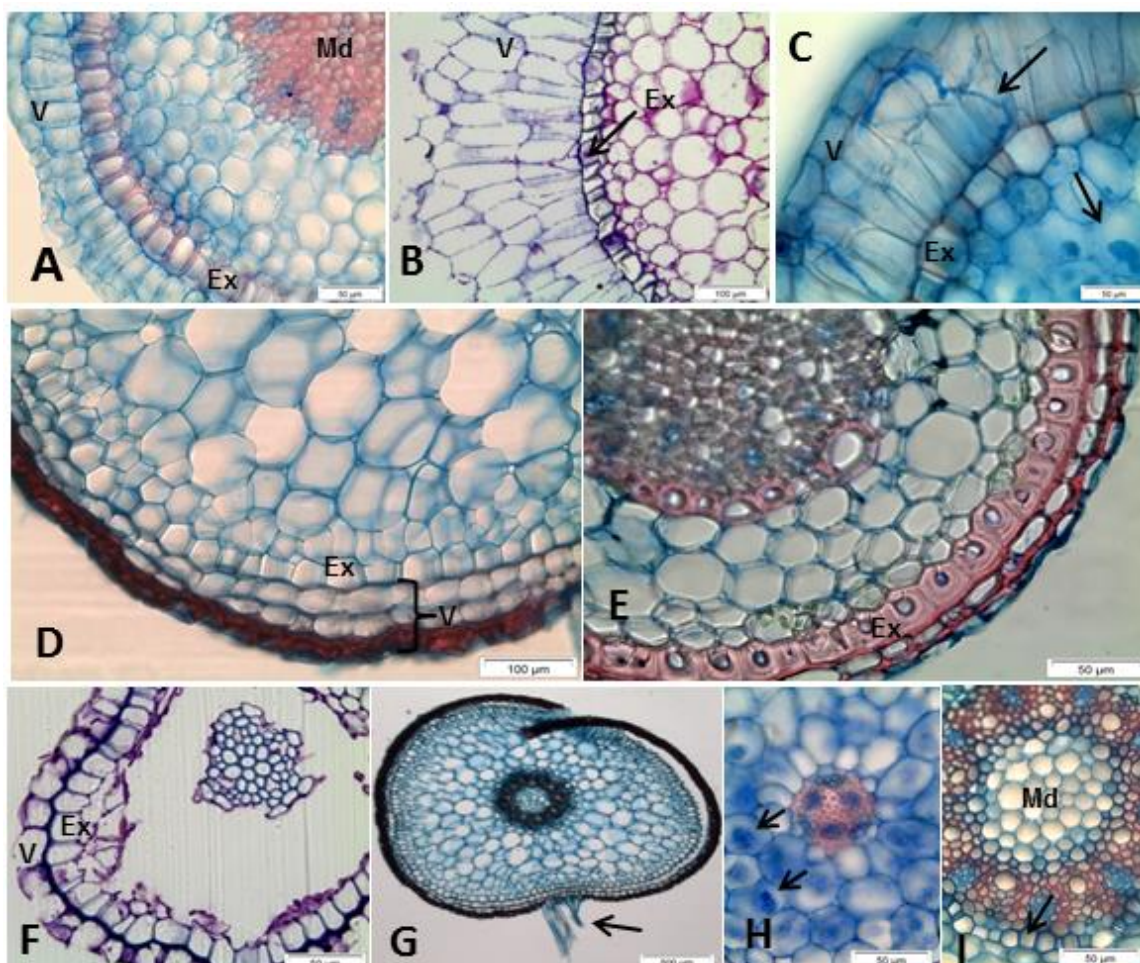


Figura 2. Raiz em secção transversal. A) *B. australis*: duas camadas de velame, exoderme com espessamento em U e células alongadas radialmente e medula constituída de parede secundária; B) *B. cucullata*: três camadas de velame duas internas alongadas radialmente e a mais externa achatada radialmente; C) *B. perinii*: Exoderme em U invertido, hifas de fungo no velame e córtex (setas); D) *Myoxanthus lonchophyllus*: três camadas de velame são achatadas radialmente e a camada mais externa é mais lignificada que as duas camadas mais internas; E) *Octomeria grandiflora*: parede da exoderme em O e alongada tangencialmente, duas camadas de velame achatadas radialmente, sendo a mais interna lignificada; F) *B. trilobata*: uma camada de velame e exoderme em U invertido; G) *Myoxanthus lonchophyllus*: tricomas no velame (seta); H) *B. dusenii*: menos de cinco polos do protoxilema e córtex com fungo (setas); I) *M. lonchophyllus*: medula com parede primária, endoderme com espessamento em O (seta), periciclo e mais de cinco polos de protoxilema; Velame=V; Exoderme=Ex; Medula=Md.

O córtex pode variar em relação ao número de camadas, há córtex com até quatro camadas como em *B. miersii*, *B. crassifolia*, *B. dusenii*, *B. orbicularis* e *Restrepia elegans* e com mais de quatro camadas como na maioria das espécies. Em *B. trilobata* não foi possível visualizar todo o córtex.



*B. dusenii*, *B. miersii* e *B. perinii* apresentaram hifas no velame (FIGURA 2-C). *B. dusenii*, *B. miersii*, *B. orbicularis*, *B. perinii*, *Pleurothallopsis nemorosa* e *Restrepia elegans* apresentaram hifas no córtex (FIGURA 2-C, H).

As células da endoderme apresentaram formato irregular e o espessamento de suas paredes apresentou espessamento em O, as células do periciclo internas das células de passagem apresentam paredes não espessadas (FIGURA 2-I).

O número de polos do protoxilema também varia entre as espécies, pode apresentar até cinco polos na maioria das espécies estudadas (FIGURA 2-H) e mais que cinco polos como *B. australis*, *B. cogniauxiana*, *B. cucullata*, *B. dolichorhiza*, *B. prorepens*, *Myoxanthus lonchophyllus*, *Restrepia elegans* e *Octomeria grandiflora* (FIGURA 2-I).

A medula das raízes possui espessamento de parede secundária (FIGURA 2-A, E, F) exceto em *B. cucullata* e *Myoxanthus lonchophyllus* que apresentam células somente com parede primária (FIGURA 2-I).

### 3.2 RIZOMA

Em secção transversal o rizoma apresenta formato circular (FIGURA 3-A), cutícula espessa, epiderme uniestratificada e células em formato de domo (FIGURA 3-D).

O córtex na maioria das espécies apresenta até cinco camadas e *B. australis*, *B. cogniauxiana*, *B. miersii* e *B. perinii* possuem mais que cinco camadas. As células corticais de todas as espécies apresentam formato globoso (FIGURA 3-D).

A maioria das espécies possui de cinco à 11 feixes vasculares. Somente *B. australis* possui de 16 à 17 feixes vasculares. Todos os feixes apresentam bainha perivascular. A medula de todas as espécies é constituída de células com parede primária (FIGURA 3-A, B, C). Algumas espécies possuem um ou dois feixes medulares, como é o caso de *B. australis*, *B. cogniauxiana* e *B. spiritu-sanctensis*.

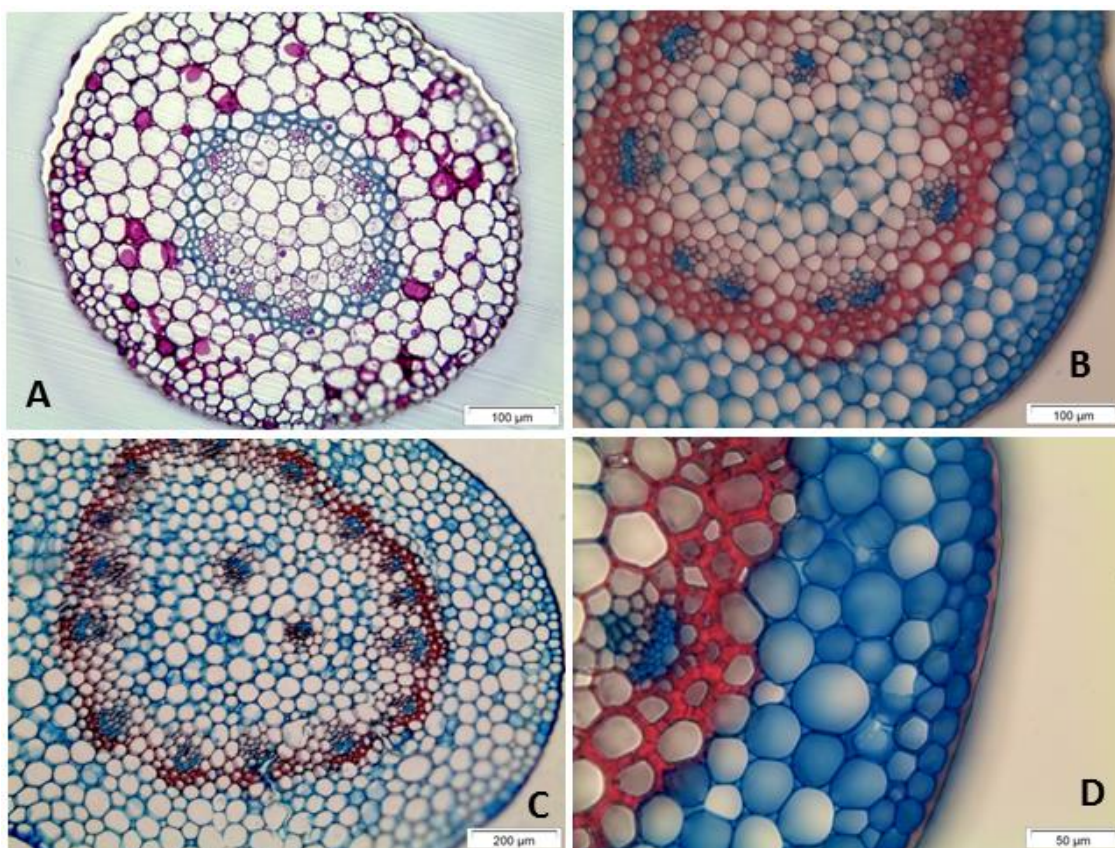


Figura 3. Rizoma em secção transversal. A) *B. gardneri*: formato circular, epiderme uniestratificada, fibras circundando feixes, medula com parede primária; B) *B. spiritu-sanctensis*: cutícula espessa, e presença de feixe na medula; C) *B. australis*: feixes colaterais e organizados em círculo na região central do rizoma e dois feixes vasculares medulares; D) *B. spiritu-sanctensis*: células corticais de formato globoso e cutícula espessa.

### 3.3 RAMICAULE

Em secção transversal o ramicaule pode apresentar formato semicircular como observado em *B. australis*, *B. cucullata*, *B. dolichorhiza* e *B. gardneri*, *B. prorepens* (FIGURA 4- A) ou circular como nas demais espécies (FIGURA 4-B-, C, D, E, F).

A epiderme, em todas as espécies, é uniestratificada (FIGURA 4-A) e em *Myoxanthus lonchophyllus* é esclerificada (FIGURA 4-B). A cutícula das espécies do grupo externo é mais espessa (FIGURA 4-C) que a cutícula das espécies de *Barbosella*.



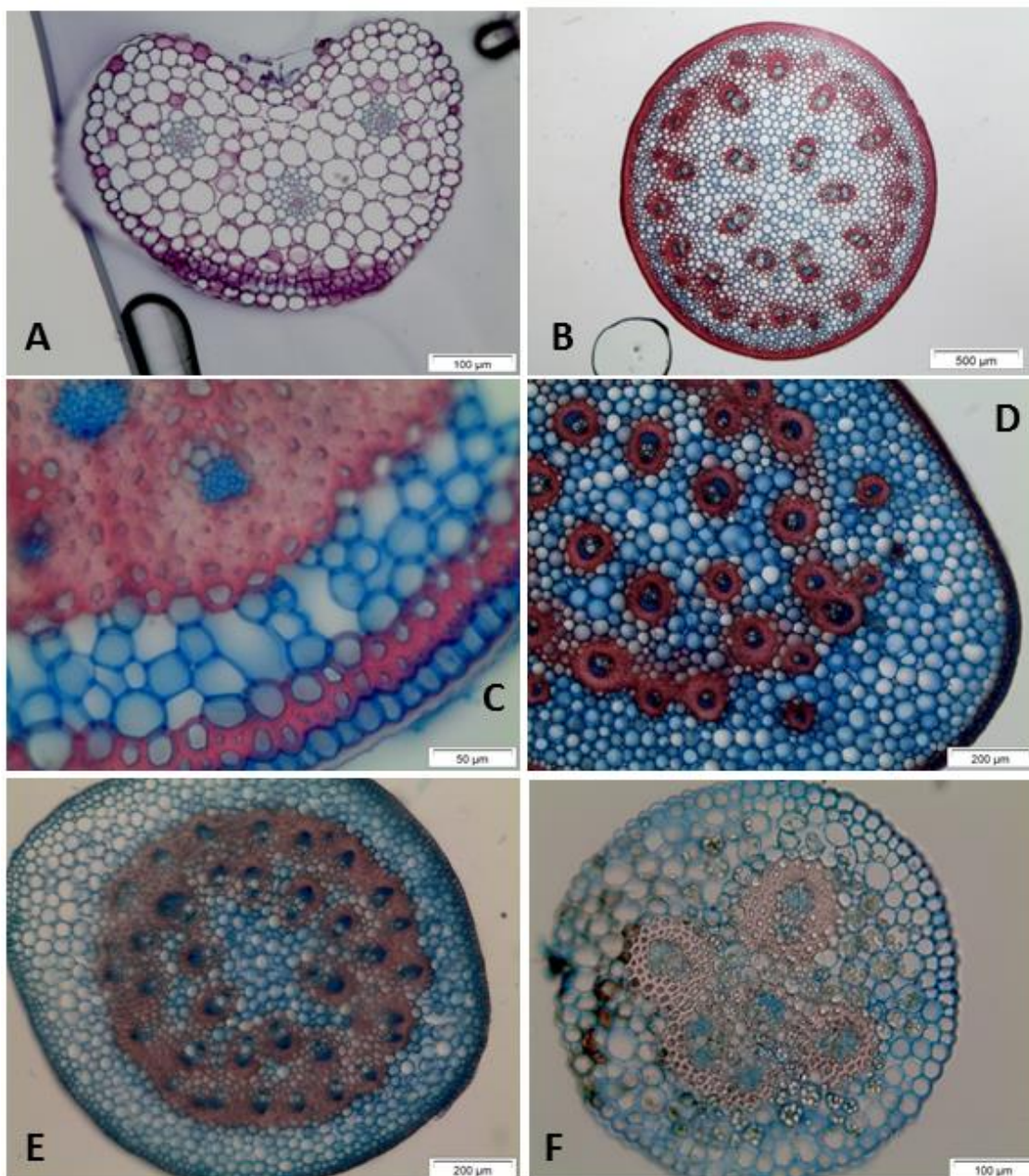


Figura 4. Ramicaule em corte transversal. A) *B.gardneri*: formato semicircular, epiderme uniestratificada; B) *Myoxanthus lonchophyllus*: formato circular, epiderme esclereificada, feixes vasculares medulares; C) *Pleurothallopsis nemorosa*: parênquima aerífero, camadas de fibras espessa ao redor dos feixes e duas camadas de córtex externo esclerificado, dois anéis de feixes vasculares; D) *Octomeria grandiflora*: feixes vasculares; E) *Restrepia elegans*: dois anéis de feixes vasculares; F) *B. perinii*: um anel de feixes com cinco feixes vasculares.

Nas espécies com formato semicircular, os três feixes vasculares colaterais se dispõem em arco e possuem camadas de fibras ao redor dos feixes (FIGURA 4-A).

Nas espécies com ramicaule circular o córtex apresenta até seis camadas como ocorre em *B. cogniauxiana*, *B. perinii*, *Myoxanthus lonchophyllus*, *Octomeria grandiflora*, *Pleurothallopsis nemorosa* e *Restrepia*

*elegans*. As células do córtex de todas as espécies apresentam formato globoso. Em *Myoxanthus lonchophyllus* o córtex possui três camadas de células esclerificadas interno a epiderme (FIGURA 4-B), *Pleurothallopsis nemorosa* apresenta duas camadas e *Octomeria grandiflora* uma camada (FIGURA 4-D).

O parênquima aerífero está presente somente em *Pleurothallopsis nemorosa* no córtex interno (FIGURA 4-C).

As espécies de *Barbosella* apresentam até cinco feixes vasculares. *Pleurothallopsis nemorosa* possui 13 feixes vasculares. E nas demais espécies do grupo externo foram observadas de 30 a 45 feixes.

Em *B. perinii* os feixes vasculares organizam-se em um anel e ao redor desses feixes há uma bainha de fibras os circundando (FIGURA 4-F). Em *Myoxanthus lonchophyllus* a organização dos feixes vasculares é formada por dois anéis e a bainha de fibras ao redor deles interligam os feixes vasculares, há feixes na medula circundados por feixes de fibras (FIGURA 4-B). Para as demais espécies há dois anéis de feixes vasculares com bainha de fibras ao redor interligando-os (FIGURA 4-D, E).

A medula de todas as espécies apresenta células com parede primária (FIGURA 4-B, D, E).

### 3.4 FOLHA

Em secção transversal, a maioria das espécies apresenta folhas de forma plana (FIGURA 5-A), enquanto *B. cucullata*, *B. dolichorhiza*, *B. prorepens* e *Restrepia elegans* possuem formato semiplano (FIGURA 5-B). As espécies de forma semiplana apresentam um sulco na região mediana da face adaxial (FIGURA 5-B).

Todas as espécies possuem cera em ambas as superfícies foliares. O tipo de cera mais comum na face adaxial é a em grânulos (FIGURA 5-F), as espécies que não apresentam esse tipo de cera são: *B. crassifolia*, *B. cucullata*, *B. orbicularis*, *Pleurothallopsis nemorosa* e *Restrepia elegans*. Também há na face adaxial cera do tipo camada suave (FIGURA 5-G) e que está presente em quase todas as espécies exceto *B. australis*, *B. miersii*, *B. perinii*, *B. spiritu-sanctensis*, *B. trilobata* e *Octomeria grandiflora*. O tipo de cera em plaqueta

(FIGURA 5-G) é o menos comum na face adaxial, estando presente somente em *B. dolichorhiza*, *B. gardneri* e *B. prorepens*.

Na face abaxial a maioria das espécies também possui mais cera do tipo grânulo, exceto *B. miersii*, *B. orbicularis* e *Pleurothallopsis nemerosa*. A cera do tipo camada suave, só não está presente nas espécies *B. australis*, *B. cogniauxiana*, *B. perinii*, *B. prorepens*, *B. spiritu-sanctensis*, *B. trilobata* e *Otomeria grandiflora* e somente três espécies possuem cera do tipo plaqueta, *B. dolichorhiza*, *B. prorepens* e *Myoxanthus lonchophyllus*.

As folhas são cobertas por uma cutícula espessa (FIGURA 5-D) em ambas as faces, com exceção das espécies *B. gardneri*, *B. crassifolia*, *B. dusenii* e *B. orbicularis* que apresentam cutícula fina (FIGURA 5-C). As espécies podem possuir cutícula ornamentada em ambas as faces, observadas em *B. australis*, *B. cogniauxiana*, *B. gardneri*, *B. orbicularis* e *B. perinii*, *B. prorepens* (FIGURA 6-E), apenas na face abaxial, como é o caso de *B. miersii*, *B. spiritu-sanctensis*, *B. trilobata*, *Myoxanthus lonchophyllus*, *Restrepia elegans* e *Octomeria grandiflora*.

A epiderme de todas as espécies é uniestratificada nas duas faces (FIGURA 7-E, F), em vista frontal as células epidérmicas podem apresentar parede curva como a maioria das espécies de *Barbosella* (FIGURA 5-H) exceto *B. cogniauxiana*, *B. dolichorhiza*, *B. prorepens* e *B. trilobata* que apresentam parede reta assim como todas as espécies do grupo externo (FIGURA 5-I, J). O formato das células da epiderme em vista frontal na maioria das espécies é irregular (FIGURA 5-H, I) ou alongado como em *B. dolichorhiza* e *B. prorepens* (FIGURA 5-J).



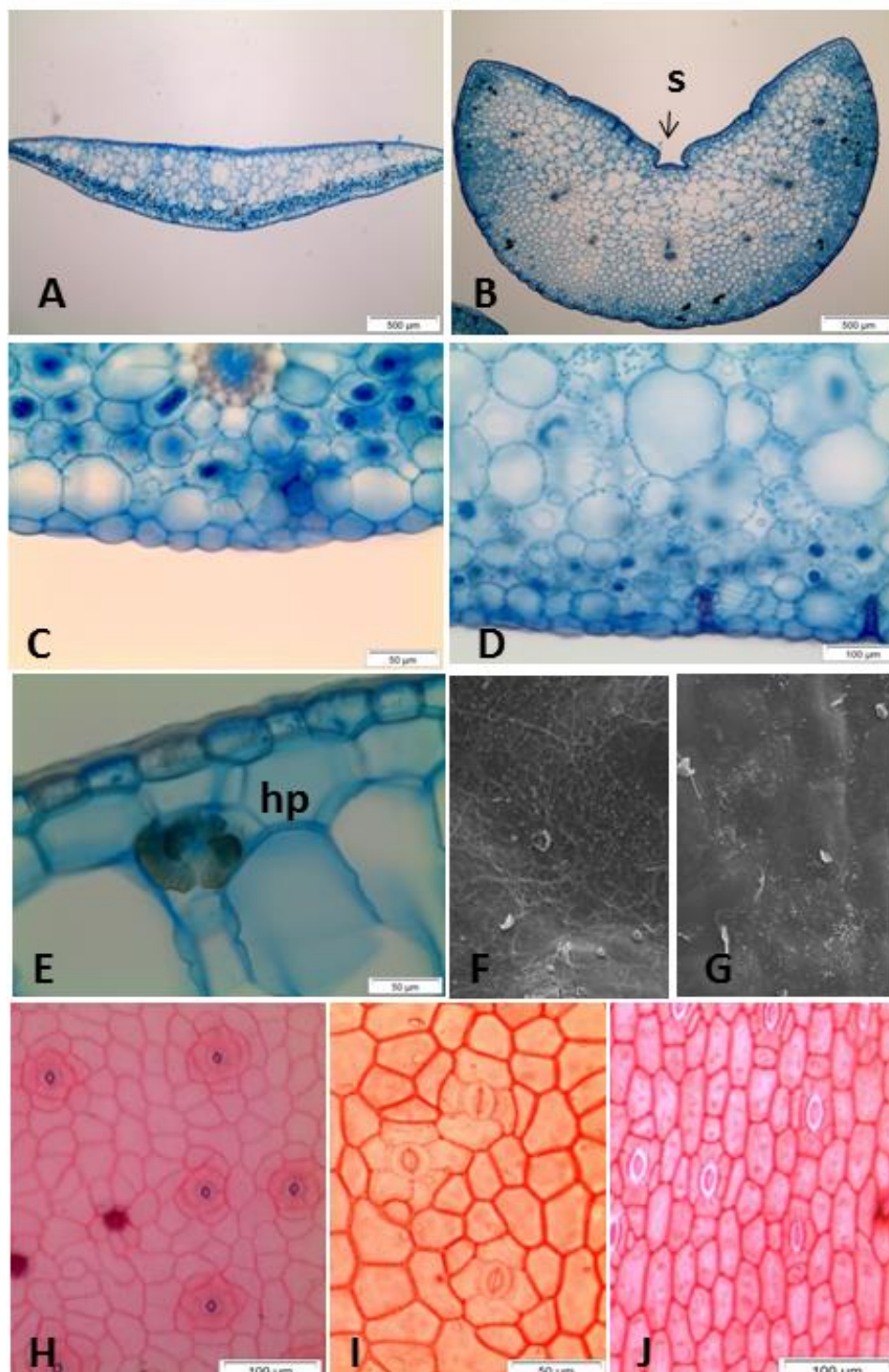


Figura 5. Folha. A) *B. gardneri*: forma plana em secção transversal; B) *B. dolichorhiza* formato semiplano com sulco (s); C) *B. gardneri* face abaxial com cutícula fina e células epidérmicas em forma de domo; D) *B. australis* cutícula espessa e ornamentada e base de tricomas; E) *Myoxanthus lonchopyllus*, face adaxial com ráfides coralóides hipoderme (hp) sem espessamento, cutícula espessa, epiderme retangular uniestratificada; F) *B. spiritu-sanctensis* epiderme com cera em grânulos na face adaxial. Foto em MEV; G) *B. gardneri* epiderme com ceras camada suave e plaquetas a face adaxial. Foto em MEV; H) *B. gardneri*: dissociação da epiderme foliar, estômatos com 4 e 5 células subsidiárias, células da epiderme em vista frontal irregulares e paredes curvas; I) *Restrepia elegans*: dissociação da epiderme foliar, estômatos com 4 e 5 células subsidiárias, células da epiderme em vista frontal irregulares e paredes retas; J) *B. dolichorhiza*: dissociação da epiderme foliar, estômatos com 4 e 5 células subsidiárias, células da epiderme em vista frontal alongadas e paredes retas.

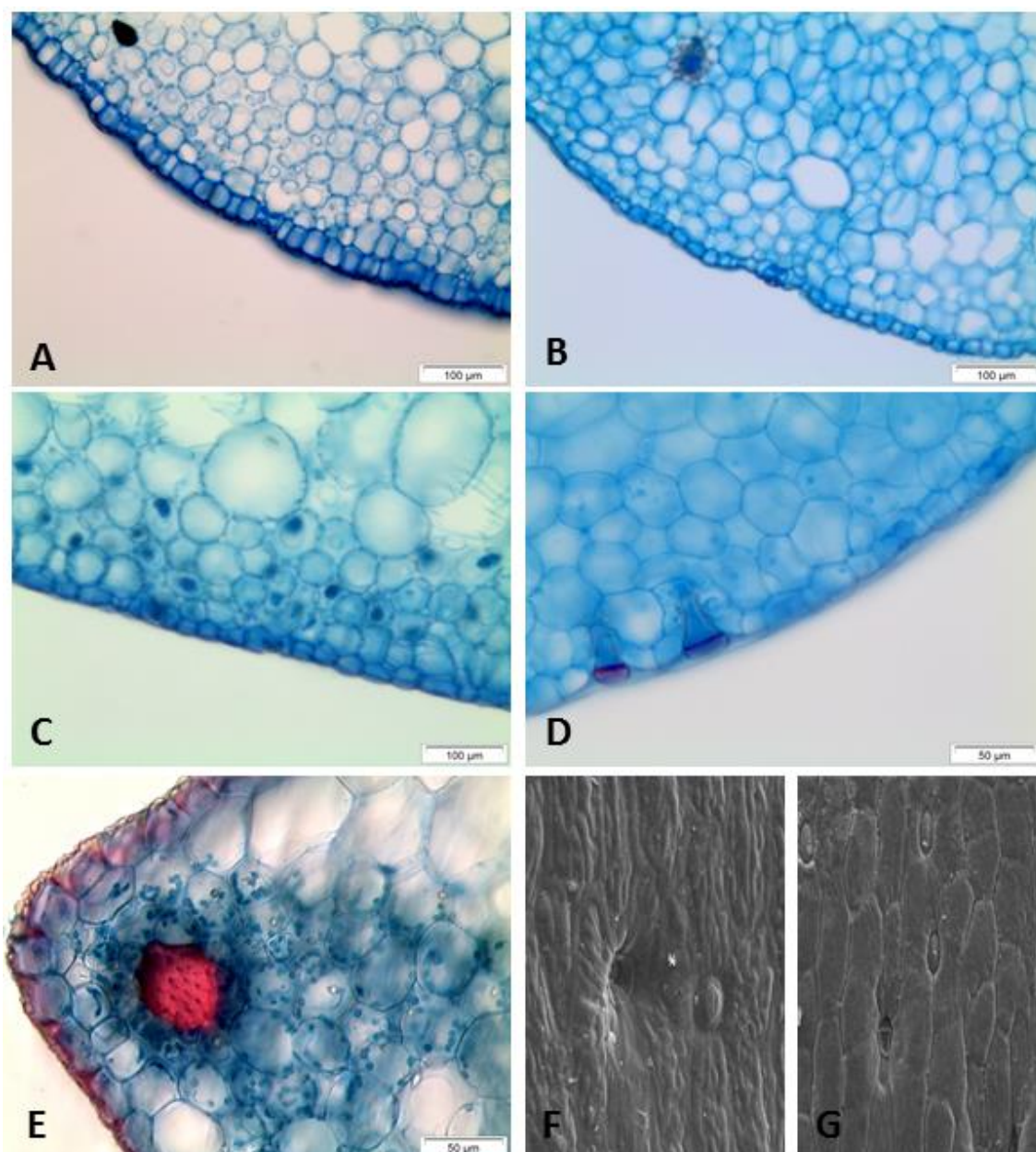


Figura 6. Folha em corte transversal. A) *B. cogniauxiana*: estômato abaixo do nível das demais células epidérmicas; B) *B. trilobata*: estômatos acima do nível das demais células epidérmicas; C) *B. australis* estômatos no mesmo nível das demais células epidérmicas; D) *B. prorepens*: folha jovem, com tricoma inteiro; E) *B. cogniauxiana* cutícula ornamentada em ambas as faces; F) *B. australis*: base de tricoma, estômato e cutícula ornamentada. Foto em MEV; G) *B. cucullata*: base de tricoma, estômatos abaixo do nível das demais células. Foto em MEV.



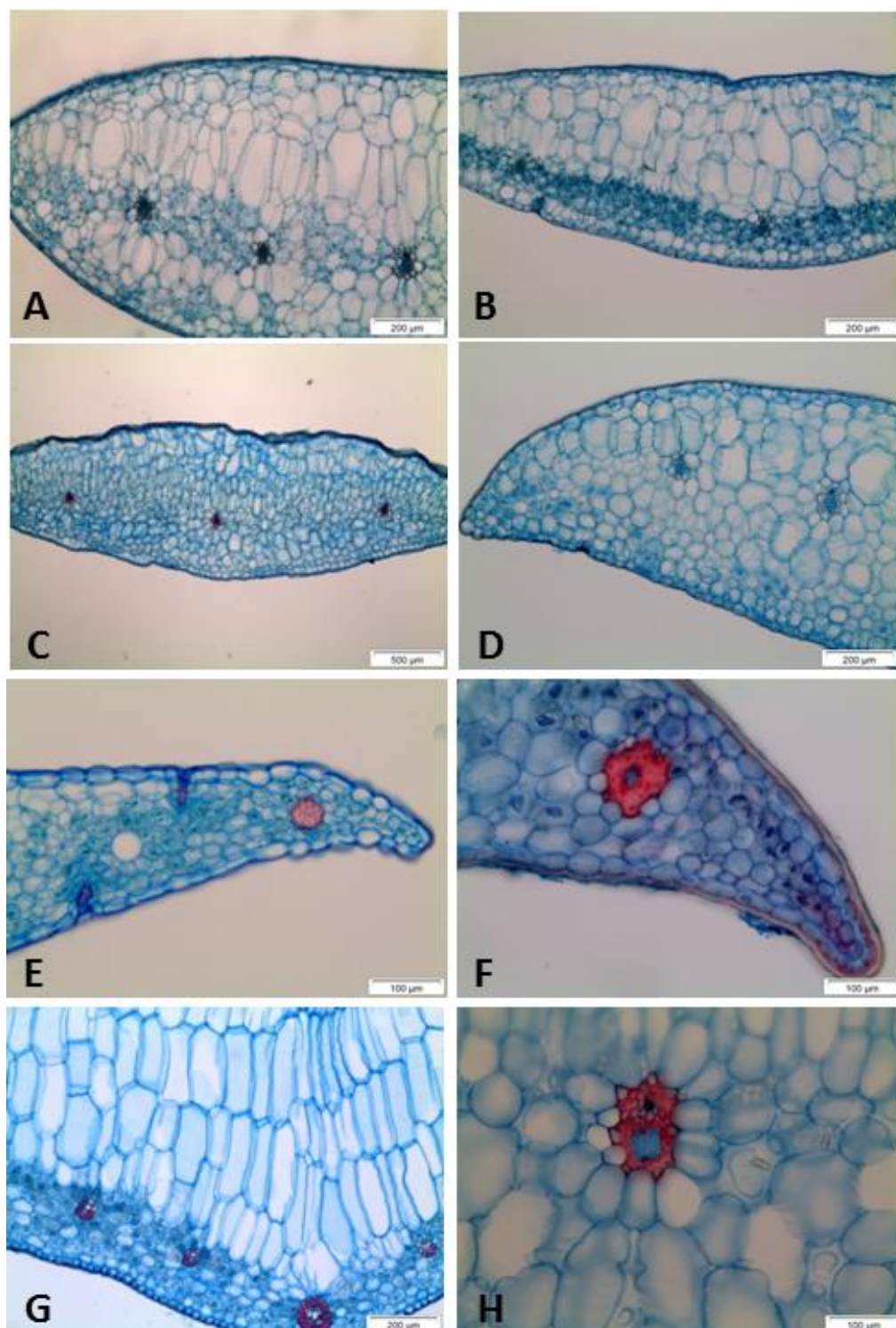


Figura 7. Folha corte transversal. A) *B. dusenii*: parênquima clorofiliano organizado no mesmo nível dos feixes vasculares, parênquima aquífero na região superior e inferior; B) *B. miersii*: parênquima clorofiliano organizado na região inferior, no mesmo nível que os feixes vasculares, parênquima aquífero na região superior; C) *B. spiritu-sanctensis*: parênquima clorofiliano acima dos feixes vasculares, parênquima aquífero região superior e inferior; D) *B. prorepens*: parênquima aquífero disperso por todo o mesófilo, bordo foliar parenquimático, idioblastos globosos com espessamento paralelo e não paralelo; E) *B. perinii*: bordo foliar com feixe de fibras, células radiadas ao redor de uma célula vazia, tricoma em ambas as faces; F) *Pleurothallopsis nemorosa*: bordo foliar com feixe vascular; G) *Octomeria grandiflora*: idioblastos cilíndricos com espessamento; H) *Pleurothallopsis nemorosa* células radiadas ao redor do feixe vascular.



Em corte transversal a epiderme da face adaxial na maioria das espécies apresenta forma de domo (FIGURA 7-E), mas também apresenta forma retangular como ocorre *B. cogniauxiana*, *B. crassifolia*, *B. dolichorhiza*, *B. dusenii*, *B. spiritusanctensis*, *Myoxanthus lonchophyllus* e *Octomeria grandiflora* (FIGURA 5-E). Na epiderme da face abaxial da maioria das espécies também foi visto que o formato de domo das células é o que mais ocorre (FIGURA 5-C), porém células retangulares também podem ser observadas em *B. dolichorhiza*, *B. dusenii*, *B. orbicularis* e *Restrepia elegans* (FIGURA 7-A) e duas espécies apresentaram células com formato elíptico, *B. trilobata* e *Myoxanthus lonchophyllus* (FIGURA 7-G).

As folhas de todas as espécies analisadas são hipostomática. Os estômatos podem estar no mesmo nível das demais células epidérmicas como ocorre na maioria das espécies (FIGURA 6-C), também podem estar abaixo do nível das células epidérmicas como ocorre em *B. cogniauxiana*, *B. cucullata* e *B. dolichorhiza* (FIGURA 6-A, G) e acima da epiderme como ocorre em *B. trilobata* (FIGURA 6-B). A partir da dissociação da epiderme foi possível observar que em geral os estômatos possuem de quatro a cinco células subsidiárias (FIGURA 5-H, I, J).

A maioria das folhas jovens da espécie de *Barbosella* apresentam tricomas com base arredondada (FIGURA 6-D), porém quando se tornam adultas as folhas perdem esses tricomas e somente a base permanece presente (FIGURA 5-D e FIGURA 6-F, G). Essa base de tricoma pode estar presente somente na face abaxial como em *B. dusenii*, em ambas as faces na maioria das espécies (FIGURA 7-E) ou ausente em ambas as faces (*B. crassifolia*, *B. prorepens* e *B. trilobata*).

No mesofilo há a presença de uma única camada de hipoderme em ambas as faces foliares. Na hipoderme adaxial, as espécies podem apresentar células com espessamento em sua parede (FIGURA 7-D) ou não apresentarem nenhum tipo de espessamento (FIGURA 5-E). Na hipoderme abaxial também pode haver espessamento como ocorre na maioria das espécies (FIGURA 5-D). A quantidade de camadas do mesofilo varia podendo apresentar até 12 camadas como na maioria das espécies ou mais que 12 camadas como *B. australis*, *B. cogniauxiana*, *B. cucullata*, *B. dolichorhiza*, *Myoxanthus lonchophyllus* e *Pleurothallopsis nemorosa*. No mesofilo próximo a face abaxial

e entre os feixes vasculares há células em arranjo radial em torno de uma célula vazia na maioria das espécies (FIGURA 7-E), exceto em *B. crassifolia*, *B. cucullata*, *B. dolichorhiza*, *Myoxanthus lonchophyllus*, *Octomeria grandiflora* e *Pleurothallopsis nemorosa*. A maioria das espécies também apresenta células em arranjo radial em torno do feixe vascular (FIGURA 7-H), com exceção de *B. cucullata*, *B. dolichorhiza*, *B. miersii*, *B. perinii*, *B. prorepens*, *B. trilobata* e *Restrepia elegans*.

A organização do parênquima clorofiliano na maioria das espécies predomina na região inferior do mesofilo, podendo estar abaixo do nível dos feixes vasculares como ocorre na maioria das espécies (FIGURA 7-B) ou estar no mesmo nível que os feixes, como *B. australis* e *B. dusenii* (FIGURA 7-A). Em *B. perinii*, *B. spiritu-sanctensis*, *B. trilobata*, *Myoxanthus lonchophyllus*, *Pleurothallopsis nemorosa* e *Restrepia elegans* o parênquima encontra-se na região superior, acima também dos feixes vasculares (FIGURA 7-C).

A maioria das folhas apresenta o parênquima aquífero disperso por todo o mesofilo (FIGURA 7-D), outras apresentam parênquima aquífero delimitado somente na região superior e inferior, não estando presente na região onde o parênquima clorofiliano encontra-se como *B. australis*, *B. dusenii*, *B. spiritu-sanctensis*, *B. trilobata* e *Pleurothallopsis nemorosa* (FIGURA 7-A, C). Parênquima aquífero somente na região superior e mediana nas espécies de *B. gardneri*, *B. miersii* e *Octomeria grandiflora* (FIGURA 7-B).

O formato dos idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal em sua maioria as plantas apresentam formato cilíndrico e globoso, entretanto, *B. cucullata*, *B. dolichorhiza*, *B. miersii*, *B. perinii*, *B. prorepens*, *B. orbicularis* e *B. trilobata* possuem somente idioblastos globosos (FIGURA 7-D) e *Octomeria grandiflora* somente idioblastos cilíndricos (FIGURA 7-G). A orientação dos espessamentos dos idioblastos também varia podendo ser paralelo e não paralelo à superfície foliar, todas as espécies de *Barbosella*, *Restrepia elegans*, *Pleurothallopsis nemorosa* possuem ambas as orientações, porém em *Myoxanthus lonchophyllus* e *Octomeria grandiflora* a orientação dos idioblastos é somente paralela a superfície foliar.

A margem das folhas pode apresentar um feixe vascular como nas espécies do grupo externo (FIGURA 7-F), apresentar um feixe de fibras como a maioria das espécies de *Barbosella* (FIGURA 7-E) ou não apresentar esses

tipos de feixes, sendo a margem preenchida por tecido parenquimático (*B. crassifolia*, *B. cucullata*, *B. dolichorhiza*, *B. prorepens*, *B. spiritu-sanctensis*, *B. trilobata*) (FIGURA 7-D).

Há cristais presentes em todas as folhas, com exceção de *B. crassifolia* que não apresenta cristais. A maioria das espécies possuem cristais prismáticos, *B. australis* possui cristais estiloides, *B. cogniauxiana*, *B. cucullata*, *B. dusenii*, *B. gardneri*, *B. miersii*, *B. trilobata*, *B. spiritu-sanctensis* e *Restrepia elegans* apresentam cristais do tipo drusa. *Myoxanthus lonchophyllus* que apresenta ráfides coraloides (FIGURA 5-E). *B. miersii* e *B. perinii* apresentam cristais do tipo ráfide.

Os feixes vasculares das espécies estão dispostos em forma de fileira, sendo que a maioria encontra-se organizado em uma fileira na região mediana na folha em seção transversal, exceto *B. australis*, *B. cogniauxiana*, *B. dusenii*, *B. gardneri*, *B. miersii*, *B. perinii* e *Myoxanthus lonchophyllus* em que os feixes estão organizados próximos a face abaxial (FIGURA 7-B). O tipo de feixe encontrado em todas as plantas é o colateral (FIGURA 7-H). O número de feixes varia em até cinco como visto para a maioria das espécies. E mais que cinco, observado em *B. australis*, *B. cogniauxiana*, *B. cucullata*, *B. dolichorhiza*, *B. orbicularis*, *Myoxanthus lonchophyllus*, *Octomeria grandiflora* e *Restrepia elegans*.

### 3.5 ANÁLISE DE AGRUPAMENTO

Inicialmente três grupos foram observados: (A) Espécies do grupo externo, que estão mais próximas entre si do que em relação às espécies de *Barbosella*, clado com suporte de *bootstrap* 14 (FIGURA 8); (B) Duas das espécies Andinas, *B. cucullata* e *B. dolichorhiza*, estão mais relacionadas com alto suporte (97 *bootstrap*) (FIGURA 8); e (C) o grupo com as demais espécies de *Barbosella* com valor de suporte de *bootstrap* 10 (FIGURA 8). Dentro deste último grupo *B. crassifolia* encontra-se na base. As espécies *B. perinii* e *B. trilobata* apresentam características mais parecidas (22 *bootstrap*) e são próximas de *B. crassifolia*.

*B. miersii* apresenta características anatômicas próximas de *B. gardneri* e foram agrupadas juntas (38 *bootstrap*) e são relacionadas à *B. spiritu-sanctensis* (12 *bootstrap*). *B. orbicularis* e *B. prorepens* também são espécies

Andinas, porém ficaram separadas. A espécie *B. orbicularis* está mais próxima a *B. duseni* (19 *bootstrap*), já *B. australis* e *B. cogniauxiana* se encontram mais próximas (31 *bootstrap*) e estão relacionadas à *B. prorepens* (13 *bootstrap*).

#### LISTA 1. ENUMERAÇÃO DOS CARACTERES DE RAIZ E FOLHA E SEUS ESTADOS.

##### Raiz

- [1] Velame com mais de uma camada: (0) mais de uma camada; (1) uma camada
- [2] Velame com três camadas: (0) menos que três camadas; (1) três camadas
- [3] Células do velame diferenciadas entre si: (0) ausente; (1) presente
- [4] Formato das células do velame: (0) achatadas e quadradas; (1) alongadas
- [5] Formato do espessamento da parede da exoderme em secção transversal ("O" ou "U"): (0) O; (1) U
- [6] Formato das células da exoderme: (0) quadradas; (1) alongadas
- [7] Número de camadas do córtex: (0) até quatro; (1) mais que quatro
- [8] Camada de células abaixo da exoderme diferenciada entre si: (0) presente; (1) ausente
- [9] Hifas na região cortical: (0) ausente; (1) presente
- [10] Formato do espessamento da parede da endoderme em secção transversal("O" ou "U"): (0) "O"; (1) "U"
- [11] Número de polos do protoxilema: (0) mais que cinco; (1) até 5
- [12] Presença de ráfides, drusas ou cristais: (0) ausente; (1) presente
- [13] Medula constituída de células com parede secundária: (0) presente; (1) ausente

##### Folha

- [14] Formato da folha em secção transversal: (0) plana; (1) semiplana
- [15] Sulco na região mediana na face adaxial: (0) ausente; (1) presente
- [16] Espessura da cutícula: (0) espessa; (1) fina
- [17] Cutícula com ornamentações: (0) presente; (1) ausente
- [18] Presença de cera: (0) presente; (1) ausente
- [19] Número de células subsidiárias: (0) quatro; (1) quatro a cinco
- [20] Formato das células epidérmicas em vista frontal: (0) irregular; (1) alongadas
- [21] Tipo de parede celular das células epidérmicas em vista frontal: (0) reta; (1) curva
- [22] Nível dos estômatos: (0) mesmo nível das demais células epidérmicas; (1) abaixo ou acima das demais células epidérmicas
- [23] Presença de feixe de fibra no bordo: (0) ausente; (1) presente
- [24] Presença de feixe vascular no bordo: (0) presente; (1) ausente
- [25] Presença de tricomas: (0) ausente; (1) presente
- [26] Células em arranjo radial em torno de uma célula vazia: (0) ausente; (1) presente
- [27] Células em arranjo radial em trono do feixe vascular: (0) ausente; (1) presente
- [28] Hipoderme adaxial: presença de células com células de paredes espessadas: (0) ausente; (1) presente
- [29] Hipoderme abaxial: presença de células com células de paredes espessadas; (0) ausente;



<i>Pleurothallopsis nemorosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Restrepia elegans</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1
<i>Octomeria grandiflora</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Barbosella australis</i>	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1
<i>Barbosella cogniauxiana</i>	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1
<i>Barbosella crassifolia</i>	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1
<i>Barbosella cucullata</i>	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0
<i>Barbosella dolichorhiza</i>	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0
<i>Barbosella dusenii</i>	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1
<i>Barbosella gardneri</i>	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1
<i>Barbosella miersii</i>	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0
<i>Barbosella orbicularis</i>	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1
<i>Barbosella perinii</i>	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1
<i>Barbosella prorepens</i>	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1
<i>Barbosella spiritusanctensis</i>	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0
<i>Barbosella trilobata</i>	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1

<b>Taxa</b>	<b>30</b>	<b>31</b>	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>34</b>	<b>35</b>	<b>36</b>	<b>37</b>	<b>38</b>	<b>39</b>	<b>40</b>	<b>41</b>	<b>42</b>
<i>Myoxanthus lonchophyllus</i>	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Pleurothallopsis nemorosa</i>	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1
<i>Restrepia elegans</i>	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0
<i>Octomeria grandiflora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Barbosella australis</i>	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Barbosella cogniauxiana</i>	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0
<i>Barbosella crassifolia</i>	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Barbosella cucullata</i>	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0
<i>Barbosella dolichorhiza</i>	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
<i>Barbosella dusenii</i>	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0
<i>Barbosella gardneri</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0
<i>Barbosella miersii</i>	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0
<i>Barbosella orbicularis</i>	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0
<i>Barbosella perinii</i>	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0
<i>Barbosella prorepens</i>	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1
<i>Barbosella spiritusanctensis</i>	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
<i>Barbosella trilobata</i>	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0

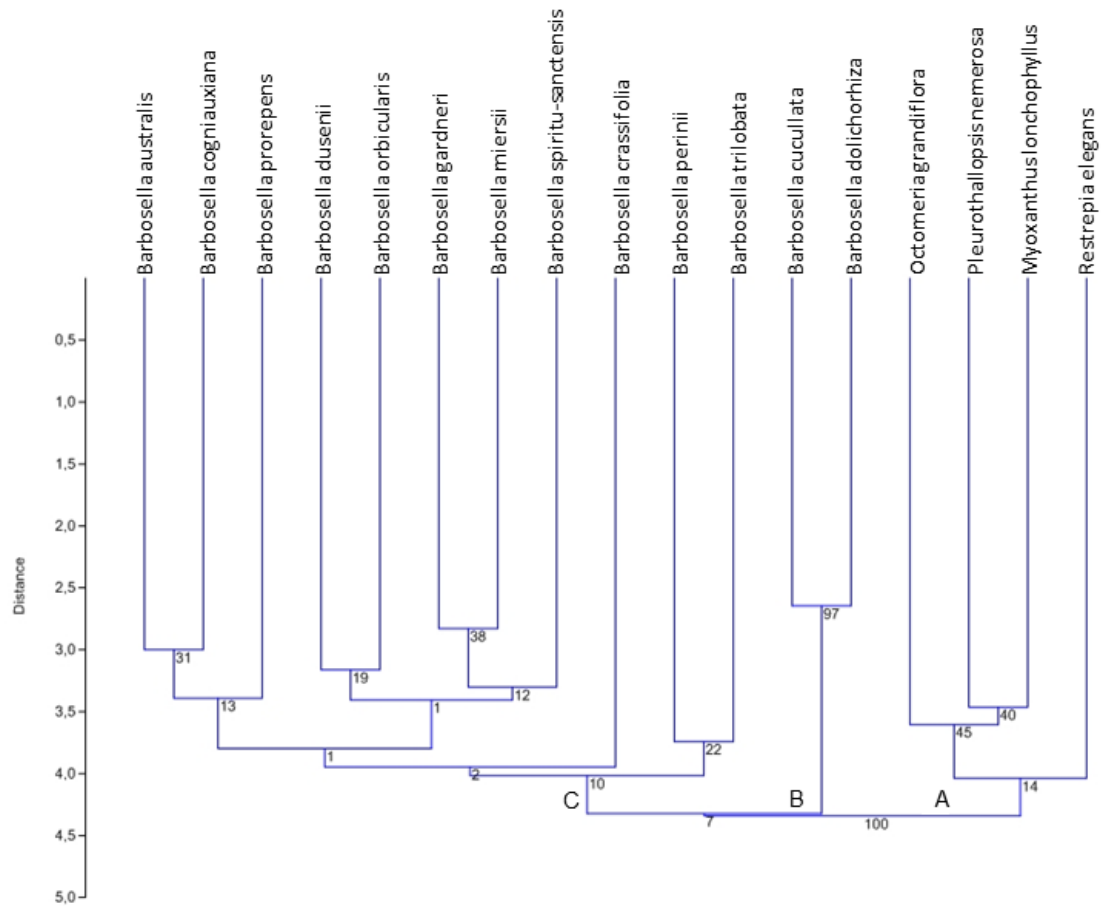


Figura 8. Dendrograma da análise de agrupamento das espécies de *Barbosella* e gêneros afins. Os números abaixo dos nós representam os valores de *bootstrap*.

## 4 DISCUSSÃO

Várias características foram importantes para diferenciar e agrupar espécies dentro do gênero estudado. Em raiz, o número e o formato das células do velame, a variação na quantidade de polos do protoxilema e tipo de espessamento da parede da exoderme; no ramicaule, a quantidade de feixes vasculares e a presença de fibras ao redor deles, presença de feixes medulares e o número de feixes vasculares no rizoma, o formato em seção transversal da folha, distribuição dos parênquimas aquífero e clorofiliano no mesofilo e presença de feixes de fibra ou vascular no bordo foliar.

O velame das espécies de *Barbosella* variou principalmente entre duas e três camadas, sendo que somente uma espécie apresentou uma camada de velame, contrariando o que foi descrito por Pridgeon (1982) que demonstrou que *Barbosella* possuía menos de duas camadas em seu velame. Assim como para *Restrepia* que apresentou duas camadas de velame, mas de acordo com Pridgeon (1982), o velame deveria ter menos de duas camadas.

A maioria dos táxons, dentro de Pleurothallidinae, possui exoderme com espessamento em forma de U e endoderme de células com espessamento forma de O (PRIDGEON, 1982; STERN, 2014). Porém *B. crassifolia*, *Octomeria grandiflora* e *Restrepia elegans* observou-se espessamento em O na exoderme.

As espécies do grupo externo possuem cutícula mais espessa no ramicaule em relação as de *Barbosella*, essa também pode ser uma característica importante para sistemática de Pleurothallidinae, pois alguns gêneros apresentam cutícula mais espessa e outros mais delgada (PRIDGEON, 1982).

Entre as espécies de *Barbosella* que possuem ramicaule cilíndrico, a relação entre a quantidade de feixes vasculares e o diâmetro pode ser observada como apresenta a literatura para Pleurothallidinae (STERN, 2014), porém comparando as espécies do grupo externo entre si e com *Barbosella*, essa relação não está presente.

As espécies de *Barbosella* estudadas não apresentaram células subepidérmicas lignificadas no ramicaule, porém as espécies do grupo externo como *Myoxanthus lonchopyllus*, *Octomeria grandiflora*, *Pleurothallopsis nemorosa* e *Restrepia elegans* possuem camada(s) lignificada(s) (STERN,



2014), isso pode ser explicado, pois a camada subepidérmica dos ramicaules tem função de sustentação da estrutura (OLIVEIRA & SAJO, 2001). Como as espécies do grupo externo possuem ramicaules muito maiores que das espécies de *Barbosella* que apresentam ramicaules muito pequenos ou inconspícuos, para esse último grupo não há vantagem em ter células de sustentação.

Na maioria das espécies de *Barbosella* o ramicaule não apresentou medula, pois seu formato é semicilíndrico, porém para as espécies de *Barbosella* e do grupo externo que apresentaram formato cilíndrico a medula é parenquimática (STERN, 2014).

As espécies da subtribo Pleurothallidinae podem ou não apresentar tricomas na superfície foliar (STERN, 2014), como foi observado e essa característica pode variar até mesmo dentro do gênero, como ocorre em *Barbosella*. As folhas adultas de espécies de Orchidaceae apresentaram somente a base do tricoma enquanto que as folhas jovens apresentaram o tricoma inteiro, o que pode indicar função de coléter (Leitão & Cortelazzo, 2008) com a produção de polissacarídeos (PIAZZA et al., 2015).

Nas espécies de *Barbosella* os estômatos estão restritos a face abaxial (PRIDGEON et al., 2005), assim como, nas espécies do grupo externo (YAMAGUTI, 2008). Essa característica hipoestomática pode ser explicada como uma forma de economia de água, já que as plantas possuem hábito epifítico e sofrem estresse hídrico (ZANENGA-GODOY & COSTA, 2003) e a presença de estômatos somente na face abaxial evita a perda de água da planta para o ambiente.

Os estômatos apresentam uma variação de quatro a cinco células subsidiárias, o que já foi observado em outras literaturas de Orchidaceae (ZANENGA-GODOY & COSTA 2003; SILVA et al., 2006).

*Barbosella* apresenta uma camada de hipoderme na face abaxial (PRIDGEON et al., 2005) como foi observado, assim como a maioria das espécies apresentam espessamento na parede da hipoderme o que contraria o que foi descrito por Neyland & Urbatsch (1995). Considera-se que a hipoderme apresenta de quatro a oito camadas e assim a ela seria considerada uma hipoderme aquífera, pois as células do parênquima aquífero fariam parte da hipoderme (PRIDGEON et al., 2005), no entanto foi considerado que as folhas

apresentavam somente uma camada de hipoderme na face adaxial, já que há somente uma camada de células diferenciadas das células do parênquima aquífero.

Nas espécies do grupo externo foi observada a presença de um feixe que ocorre no bordo foliar e é envolvido e por fibras fortemente lignificadas, como visto em *Myoxanthus lonchophyllus*, *Octomeria grandiflora* e *Pleurothallopsis nemerosa* (YAMAGUTI, 2008). Essa característica não se faz presente nas espécies de *Barbosella*, pois como foi observado foram encontradas espécies somente com feixe de fibras no bordo ou células parenquimáticas. De acordo com Stern (2014) somente *B. australis* apresenta feixes de fibra na margem foliar, o que contraria o que foi observado para a maioria das espécies de *Barbosella* estudadas.

Todas as espécies de *Barbosella* apresentaram parênquima aquífero com idioblastos com espessamento traqueoidal, o que contraria o trabalho de Pridgeon (1982) que diz que *Barbosella* não apresenta esse tipo de espessamento. Foi observado em *Octomeria* e *Restrepia* a presença desse espessamento o que se encontra de acordo com a literatura (PRIDGEON, 1982). Os idioblastos com espessamento podem apresentar função importante no armazenamento de água dando suporte mecânico para as células (PRIDGEON, 1982) já que muitas plantas epífitas sofrem estresse climático (MILLER & WARREN, 1996). Em todas as espécies, os feixes vasculares são colaterais nas folhas e são comuns na família Orchidaceae (PRIDGEON, 1982; STERN et al., 1993; OLIVEIRA & SAJO, 1999; ZANENGO-GODOY & COSTA, 2003). Como observado nas folhas, as espécies apresentaram feixes vasculares na região mediana ou próximo a face abaxial, na região mediana, como já visto para as espécies da subtribo Pleurothallidinae (PRIDGEON, 1982; YAMAGUTI, 2008).

Em *Myoxanthus lonchophyllus*, *Octomeria grandiflora* e *Pleurothallopsis nemerosa* há a presença de células em arranjo radial em torno dos feixes vasculares, que foi chamado parênquima radiado (YAMAGUTI, 2008). Essa característica também foi observada na maioria das espécies de *Barbosella*.

Na análise de agrupamento, as espécies do grupo externo ficaram próximas entre si e separadas das espécies do grupo de *Barbosella*. As espécies apresentaram semelhanças em sua morfologia externa (LUER, 2000)

e na análise anatômica como as espécies *B. prorepens* e *B. cogniauxiana* que ficaram próximas no dendrograma e *B. cucullata* e *B. dolichorhiza*. Como foi visto nos resultados. *B. crassifolia* e *B. orbicularis* são consideradas espécies relacionadas por Luer (2000), porém na análise não ficaram grupadas.

## 5 CONCLUSÃO

A descrição e a revisão das características anatômicas das espécies foram importantes para a separação entre os gêneros e separar e agrupar espécies próximas de *Barbosella*.

A análise de agrupamento foi importante para criar correlação entre as espécies possibilitando entender a proximidade entre elas, com base em suas características anatômicas de folha e raiz. Análise anatômica aliada a uma análise molecular pode ser feita para que melhores resultados sejam encontrados para separar e entender melhor a relação entre as espécies.

A utilização de caracteres morfológicos vegetativos e anatômicos e morfológicos dos órgãos reprodutivos, junto com uma análise molecular pode contribuir para melhor compreensão da filogenia do grupo.

## 6 REFERÊNCIAS

BARTHLOTT, W.; NEINHUIS, C.; CUTLER, D.; DITSCH, F.; MEUSEL, I.; THEISEN, I.; WILHELMI, H. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. **Botanical Journal of the Linnean & Sock**, v.126, p.237-260, 1998.

CHASE, M. W.; BARRET, R. L.; CAMERON, K. N.; FREUDENSTEIN, J. V. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. In: Dixon KM (ed) **Orchid Conservation, Natural History Publications**, p.69-89, 2003.

CHASE, M. W.; CAMERON, K. M.; FREUDENSTEIN, J.V. et al. An updated classification of Orchidaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, p.151-153, 2015.

CRIBB, P. J.; CHASE, M. C. **Epidendroideae (part one)**. In: PRIDGEON, A. M.; CRIBB, P. J.; CHASE, M. W.; RASMUSSEN, F. N. (eds.). *Genera Orchidacearum*. Oxford University Press, New York, v.4, p.3-7, 2005.

FELSENSTEIN, J. Phylogenies and the Comparative Method. **The American Naturalist**, v.125, n.1, p.1-15, 1985.

FRANKLIN, G. L. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature**, v.155, n. 3924, p.51, 1945.

GOMES, R. S. **Artificial key to the genera of Pleurothallidinae**. In: PRIDGEON, A. M.; CRIBB, P. J.; CHASE, M. W.; RASMUSSEN, F. N. (eds.) *Genera Orchidacearum*. Oxford University Press, New York, v.4, p.325-328, 2005.

HIGGINS, W. E.; WILLIAMS, N. H. **Pleurothallidinae: How many genera?** p.1-14, 2008.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Co. Inc., p.523, 1940.

KAISER, E. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin- Gelatine. **Botanical Zentral**, v.1880, p.25-26, 1880.

LEITÃO, C. A.; CORTELAZZO, A. L. Structural and histochemical characterisation of the colletes of *Rodriguezia venusta* (Orchidaceae). **Australian Journal of Botany**, v.56, p.61-165, 2008.

LUER, C.A. Icones Pleurothallidarum XX. Systematics of *Jostia*, *Andinia*, *Barbosella*, *Barbrodria*, *Pleurothallis* subgen *Antilla*, subgen *Effusia*, subgen *Restrepiodia*. Addenda to *Lepanthes*, *Masdevallia*, *Platystele*, *Pleurothallis*, *Restreplopsis*, *Scaphosepalum* and *Teagueia*. **Monogr. Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden**, v.79, p.1-140, 2000.

MILLER, D.; WARREN, R. **Orquídeas do alto da Serra da mata atlântica pluvial do sudeste do Brasil**. Salamandra, 1996.

NEYLAND, R.; URBATSCH, L. E. A phylogenetic analysis of subtribe Pleurothallidinae (Orchidaceae) **Botanical Journal of the Linnean Socip**, v.117, p.13-28, 1995.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v.59, p.368-373, 1965.

OLANTUJI, A.O.; NENGUIM R.O. Occurrence and distribution of tracheoidal elements in the Orchidaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.80, p.357-370, 1980.

OLIVEIRA, V. C.; SAJO, M. G. Anatomia foliar de espécies epífitas de Orchidaceae. **Revista brasil. Bot.**, São Paulo, v.22, n.3, p.365-374, 1999.

OLIVEIRA, V. C.; SAJO, M. G. Morfoanatomia caular de nove espécies de Orchidaceae. **Acta Botanica Brasilica**, v.15, n.2, p.177-188, 2001.

PIAZZA, L. D.; SMIDT, E. C.; BONA, C. Anatomia comparada dos órgãos vegetativos de espécies de *Bulbophyllum* seção *Didactyle* (Lindl.) Cogn. e *Bulbophyllum* seção *Xiphizusa* Rchb.f. (Orchidaceae) **Hoehnea**, v.42, n.1, p.171-183, 2015.

PRIDGEON, A. M.; STERN, W. L. Vegetative anatomy of *Myoxanthus* (Orchidaceae). **Selbyana**, v. 7, p.55-63. 1982.

PRIDGEON, A. M.; CHASE, M. W. A phylogenetic reclassification of Pleurothallidinae (Orchidaceae). **Lindleyana**, v.16, p.235-271, 2001.

POREMBSKI, S.; BARTHLOTT, W. Velamen radicum micromorphology and classification of Orchidaceae. **Nord. J. Copenhagen**, v.8, p.117-137, 1988

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2ª ed. Ames, The Iowa State College Press, p.391, 1951.

SCATENA, V. L.; NUNES, A. C. Anatomia foliar de *Pleurothallis rupestris* Lindl. (Orchidaceae) dos campos rupestres do Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v.15, p.35-43, 1996.

SILVA, I. V.; MEIRA, R. M. S. A.; AZEVEDO, A. A.; EUCLYDES, R. M. A. Estratégias anatômicas foliares de treze espécies de Orchidaceae ocorrentes em um campo de altitude no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB) – MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.20, p.741-750, 2006

STERN, W. L.; PRIDGEON, A. M. Ramicaul, a better term for the pleurothallid “secondary stem”. **American Orchid Society Bulletin**, v.53, p.397-401, 1984.

STERN, W.L.; F.L.S.; MORRIS, M.W.; JUDD, W.S. 1993. Comparative vegetative anatomy and systematics os Spiranthoideae(Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.113, p.161-197, 1993.

STERN, W. L. **Anatomy of the Monocotyledons**. Orchidaceae. Oxford: Oxford University Press, v.X, 2014.

VAN DEN BERG, C. **Tribe Epidendroideae**. *In*: PRIDGEON, A. M.; CRIBB, P. J.; CHASE, M. W.; RASMUNSEN, F. N. (eds.). *Genera Orchidacearum*. Oxford University Press, New York, v.4, p.162-164, 2005.

ZANENGA-GODOY, R.; COSTA, C. G. Anatomia foliar de quatro espécies do gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) do planalto central brasileiro. **Acta Botanica Brasilica**, v.17, p.101-118, 2003.